

# Extracellular vesicles containing miR-146a-5p secreted by bone marrow mesenchymal cells activate hepatocytic progenitors in regenerating rat livers

Stem Cell Res Ther. 2021  
doi: 10.1186/s13287-021-02387-6

Ichinohe N, Ishii M, Tanimizu N, Mizuguchi T, Yoshioka Y,  
Ochiya T, Suzuki H, Mitaka T

**要旨** ラット大腿骨髄から単離した間葉系細胞を、Retrorsine で肝細胞増殖を抑制後に肝臓の 2/3 を切除したラット肝臓に移植すると、肝臓の再生を促進することを見出した。移植した骨髄間葉系細胞が分泌する細胞外小胞に含まれる *miR-146a-5p* がレシピエントに元々存在する肝前駆細胞を活性化させ、肝再生を促進するという肝再生メカニズムを解明した。

## 1. 肝臓移植と細胞移植研究の現状

肝臓は再生能力の高い臓器として知られており、肝臓の 2/3 を切除しても、10 日程でほぼ元の大きさに回復する。しかしながら、慢性的に障害された肝臓では成熟肝細胞の再生能力は低下している。現在、肝硬変等による致死性肝疾患患者に対して肝臓移植が行われているが、脳死移植ではドナー不足、生体肝移植ではドナーへの侵襲性等の様々な問題がある。そこで新しい代替医療として細胞移植による再生医療に期待が寄せられている。これまでの細胞移植では、移植したドナー細胞が、患者の肝臓に生着・増殖し、臓器全体がドナー細胞で置き換わることを目標としてきた。しかしながら、これまでの研究からドナー細胞の生着率や置換率は、ドナー細胞の種類やレシピエント肝臓の状態に左右されることが分かってきた<sup>1)</sup>。

## 2. 細胞移植における肝前駆細胞の増生

我々は D-galactosamine 投与薬剤性急性肝炎モデルラット肝臓から Thy1 陽性細胞を分離し、Retrorsine (Ret) / Partial Hepatectomy (PH) model ラット肝臓に移植したところ、Thy1 陽性細胞の生着数が少ないにも関わらず、肝臓が肥大し、肝再生が促進される、という知見を得た<sup>2)</sup>。Ret/PH モデルでは、肝切除約 2 週間後に内在性肝前駆細胞の 1 つ、小型肝細胞様細胞 (Small hepatocyte-like progenitor cells; SHPCs) が出現することが報告されている<sup>3)</sup>。

我々は、Thy1 陽性細胞が液性因子の 1 つである細胞外小胞 (Extracellular vesicles; EVs) を分泌することで内在性細胞を活性化させ、SHPCs の増殖を誘導することで肝再生が促進されることを報告した<sup>2)</sup>。今回、同様に Thy1 を発現している骨髄間葉系細胞 (Bone-marrow mesenchymal cells; BM-MCs) にも肝障害由来細胞と同様な作用があるか検討したところ、異なるメカニズムで SHPCs が誘導される知見を得た。

## 3. BM-MCs 由来 EVs による肝前駆細胞誘導

BM-MCs の培養液 (培養上清: Conditioned medium: CM) を回収し、超遠心法で抽出した EVs を Ret/PH モデルに投与すると、細胞移植と同様に SHPCs が増大した。EVs に含まれる因子を検討したところ、*miR-146a-5p* が肝前駆細胞の増殖を促進することがわかった。*miR-146a-5p* を、レンチウイルスベクターを用いて BM-MCs に強制発現させると、EVs 中に含まれる *miR-146a-5p* の発現量が約 5 倍高まる。この EVs を Ret/PH モデルに投与したところ、SHPC cluster 数は、Control に比べて約 3 倍、cluster 当たりの細胞数は約 2 倍増大した (図 1)。これらの結果は、BM-MCs 由来 EVs 中の *miR-146a-5p* が内在性肝前駆細胞を増大させる重要因子であることを示している。

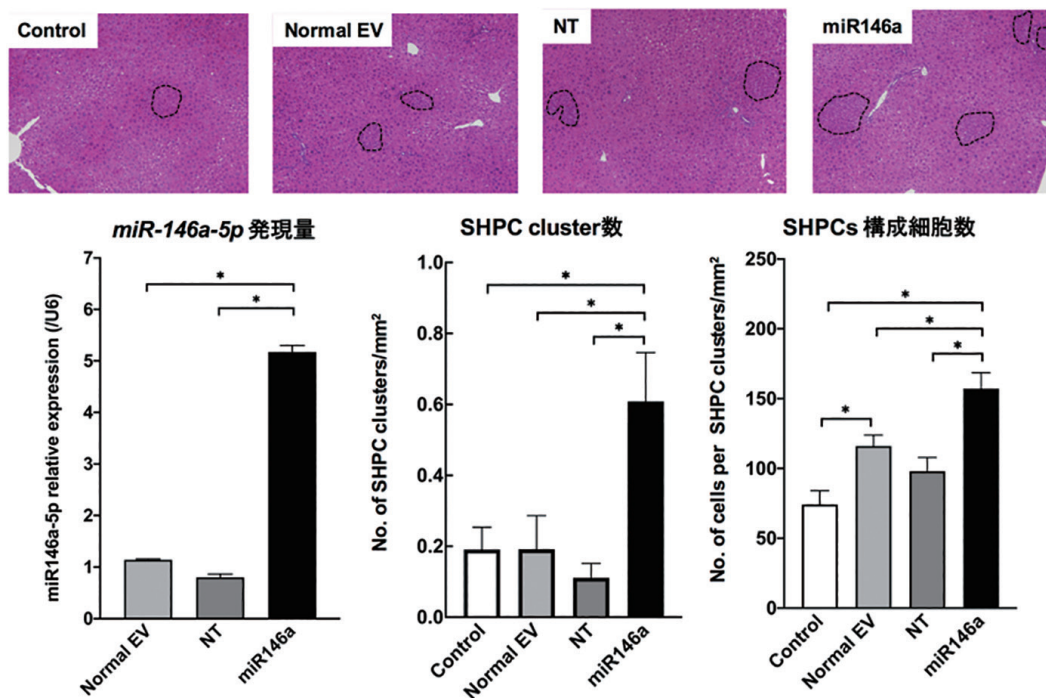


図1 *miR-146a-5p* を強制発現した BM-MCs 由来 EVs を投与した肝組織の写真と SHPCs 挙動

#### 4. 細胞移植による再生医療の可能性

従来、細胞移植は、疲弊した肝細胞を新鮮な肝細胞と置換することを目的として行われてきたが、本研究結果は、移植細胞が放出する EVs が直接、内在性肝前駆細胞の増殖を促進することによって、肝再生を促進することを示している。言い換えれば、疲弊した肝細胞が BM-MCs が分泌する EVs で元気になり、肝臓が早く再生する、ということである。今後は患者数の多い脂肪性肝炎や重症な肝硬変モデルにおいても同様の肝再生を促進できるのか、検討していきたいと考えている。

最近、細胞間情報伝達物質としての EVs に関心が集まりつつあり研究が進んでいる。EVs 内には mRNA や miRNA, long non-coding RNA をはじめ、サイトカインなどの様々な因子が内包されていることが分かっている。これまでは癌の分野において EVs の研究が進んでいるが、今回は内在性肝前駆細胞にターゲットを絞って再生促進因子の解析を行った。現在、mRNA を脂質ナノ粒子 (Lipid nano-particle; LNP) に内包させたワクチンや核酸医薬の臨床応用が進んでいる。今後、治療薬として EVs もしくは microRNA を内包させた LNP による再生誘導治療薬の開発に繋がることが期待される。

#### 参考文献

1. Ichinohe N, Kon J, Sasaki K, Nakamura Y, Ooe H, Tanimizu N, Mitaka T. Growth ability and repopulation efficiency of transplanted hepatic stem cells, progenitor cells, and mature hepatocytes in retrorsine-treated rat livers. *Cell Transplant* 2012; 21: 11-22.
2. Gordon GJ, Coleman WB, Hixson DC, Grisham JW. Liver regeneration in rats with retrorsine-induced hepatocellular injury proceeds through a novel cellular response. *Am J Pathol* 2000; 156: 607-619.
3. Ichinohe N, Ishii M, Tanimizu N, Kon J, Yoshioka Y, Ochiya T, Mizuguchi T, Hirata K, Mitaka T. Transplantation of Thyl+ cells accelerates liver regeneration by enhancing the growth of small hepatocyte-like progenitor cells via IL17RB Signaling. *Stem Cells* 2017; 35: 920-931.

#### 市戸 義久

略歴

2007年 札幌医科大学大学院卒業

2007年 札幌医科大学医学部フロンティア医学研究所組織再生学部門 研究生

2019年 同研究室助教